



PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C12N 15/12, C07K 14/82, 16/30, C12Q 1/68, G01N 33/574, A61K 48/00</p>	A2	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/11780</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 11. März 1999 (11.03.99)</p>		
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 45%; vertical-align: top; padding: 5px;"> <p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE98/02621</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 1. September 1998 (01.09.98)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 197 38 205.3 2. September 1997 (02.09.97) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MAX-DELBÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BEHRENS, Jürgen [DE/DE]; Steegerstrasse 72, D-13359 Berlin (DE). BIRCHMEIER, Walter [DE/DE]; Goethestrasse 14, D-16341 Schwanebeck (DE).</p> <p>(74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; BioTeZ Berlin-Buch GmbH, Patentstelle, Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).</p> </td> <td style="width: 55%; vertical-align: top; padding: 5px;"> <p>(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p> </td> </tr> </table>			<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE98/02621</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 1. September 1998 (01.09.98)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 197 38 205.3 2. September 1997 (02.09.97) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MAX-DELBÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BEHRENS, Jürgen [DE/DE]; Steegerstrasse 72, D-13359 Berlin (DE). BIRCHMEIER, Walter [DE/DE]; Goethestrasse 14, D-16341 Schwanebeck (DE).</p> <p>(74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; BioTeZ Berlin-Buch GmbH, Patentstelle, Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE98/02621</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 1. September 1998 (01.09.98)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 197 38 205.3 2. September 1997 (02.09.97) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MAX-DELBÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BEHRENS, Jürgen [DE/DE]; Steegerstrasse 72, D-13359 Berlin (DE). BIRCHMEIER, Walter [DE/DE]; Goethestrasse 14, D-16341 Schwanebeck (DE).</p> <p>(74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; BioTeZ Berlin-Buch GmbH, Patentstelle, Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>			
<p>(54) Title: CONDUCTINE PROTEIN AND A RELATED AGENT FOR DIAGNOSING AND TREATING TUMOR ILLNESSES</p> <p>(54) Bezeichnung: CONDUCTINPROTEIN UND VERWANDTES MITTEL ZUR DIAGNOSE UND ZUR THERAPIE VON TUMOR-ERKRANKUNGEN</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to a new method for combating tumor illnesses through the use of molecular biological associations during formation of the tumor. The aim of the invention is to develop a method for controlling the regulation of β-catenine in body cells. The object of the invention is a new protein which bonds to β-catenine and the subsequent cytoplasmic decomposition of said protein. This protein has the amino-acid sequence according to figure 1 and is designated as conductine. Agents for diagnosing and treating tumor illnesses are developed from the occurrence and the action of conductine in body cells.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Die Erfindung betrifft neue Wege zur Bekämpfung von Tumorerkrankungen durch Ausnutzung molekularbiologischer Zusammenhänge bei der Tumorentstehung. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Kontrolle der Regulation von β-Catenin in Körperzellen zu entwickeln. Gegenstand der Erfindung ist ein neues Protein, welches an β-Catenin bindet und zu dessen zytoplasmatischen Abbau führt. Dieses Protein hat die Aminosäuresequenz gemäß Abb. 1 und wurde als CONDUCTIN bezeichnet. Vom Vorkommen und der Wirkung des Conductins in Körperzellen abgeleitet werden Mittel zur Diagnose und zur Therapie von Tumorerkrankungen entwickelt.</p>				

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

**CONDUCTINPROTEIN UND VERWANDTES MITTEL ZUR DIAGNOSE UND ZUR THERAPIE VON TUMOR-
ERKRANKUNGEN****Beschreibung**

Die Erfindung betrifft neue Wege zur Bekämpfung von Tumorerkrankungen durch Ausnutzung molekularbiologischer Zusammenhänge bei der Tumorentstehung. Sie betrifft im einzelnen ein Mittel zur Diagnose von Tumorerkrankungen, und darauf aufbauend ein Mittel zur Therapie. Sie betrifft ferner das neue Protein Conductin, seine Mutanten und Varianten sowie Teile davon, die dazu analogen cDNA-Sequenzen und deren Verwendung in gentherapeutischen und pharmakologischen Verfahren.

Anwendungsgebiete der Erfindung sind die Medizin und die pharmazeutische Industrie.

Cadherine und Catenine bilden Zelladhäsionskomplexe, die in zahlreichen Geweben für die Anheftung der Zellen aneinander verantwortlich sind. Die Cadherine sind Transmembranproteine und stellen den direkten Kontakt zwischen benachbarten Zellen her. - α , β - und γ -Catenin sind zytoplasmatische Komponenten, die die Cadherine mit dem Aktin-Zytoskelett verbinden. Neben der Funktion bei der Zelladhäsion haben Catenine auch eine entscheidende Rolle bei Signaltransduktionsprozessen. β -Catenin in Vertebraten und das homologe Segmentpolaritäts-Genprodukt Armadillo in Drosophila werden durch den Wnt/Wingless-Signalweg stabilisiert (Nusse, R., Cell 89, 321-323, 1997). Dies führt zu einer Erhöhung der zytoplasmatischen, nicht an Cadherin gebundenen Fraktion dieser Proteine, die daraufhin mit HMG-Transkriptionsfaktoren der LEF-1/TCF-Familie wechselwirken können. Als Resultat wird β -Catenin/Armadillo in den Zellkern transportiert, wo es zusammen mit den LEF/TCF-Proteinen an DNA bindet und bestimmte Gene aktiviert (Behrens, J. et. al., Nature 382, 638-642, 1996).

Dieser Signalweg spielt auch eine Rolle bei der Tumorentstehung. In Kolonepithelzellen wird der zytoplasmatische Pool von β -

Catenin durch das Tumorsuppressor-Genprodukt APC (Adenomatosis Polyposis Coli) streng reguliert. Mutationen von APC, wie sie in etwa 80% aller Kolonkarzinome auftreten, führen zu verkürzten Formen des APC Proteins, die nicht mehr in der Lage sind β -Catenin zu destabilisieren. Dadurch findet man in diesen Tumoren permanente Komplexe von β -Catenin mit dem HMG-Transkriptionsfaktor TCF-4, welche für die Transformation der Zellen verantwortlich gemacht werden. Diese Theorie wird gestützt durch den kürzlichen Befund, daß in Tumoren, in denen APC nicht verändert ist, Mutationen von β -Catenin auftreten. Diese führen ebenfalls zur zytoplasmatischen Stabilisierung von β -Catenin und zur Assoziation mit LEF-1/TCF-Faktoren (Morin, P.J. et. al., Science 275, 1787-1790).

Die Erfindung hat das Ziel, einen neuen Weg zur Verhinderung der Tumorentstehung zu finden. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Kontrolle der Regulation von β -Catenin in Körperzellen zu entwickeln.

Gegenstand der Erfindung ist ein neues Protein, welches an β -Catenin bindet und zu dessen zytoplasmatischen Abbau führt. Dieses Protein hat die Aminosäuresequenz gemäß Abb. 1 und wurde als CONDUCTIN bezeichnet.

Das Erfindung beruht nun auf der eigenen Erkenntnis, daß Conductin über eine β -Catenin-Bindungsdomäne an β -Catenin, über eine GSK 3 β -Bindungsdomäne an GSK 3 β und über eine sogenannte RGS-Domäne (Regulator of G-Protein Signalling) an APC-Fragmente bindet. Dadurch kommt es zum zytoplasmatischen Abbau von β -Catenin und in Vertebraten zur Blockade des Wnt/Wingless-Signalwegs. Damit ist klar, daß Conductin ein wichtiger Regulator der β -Catenin-Funktion ist und im Zusammenspiel mit APC zur Tumorsuppression beiträgt.

Davon abgeleitet betrifft die Erfindung ein Mittel zur Diagnose von Tumorerkrankungen, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß das Vorhandensein und die Menge von Conductin, seiner Mutanten und Varianten oder seiner Teile in Körperzellen nachgewiesen

wird. Dieser Nachweis kann auf der Proteinebene mit spezifischen Antikörpern durchgeführt werden, speziell mit monoklonalen Antikörpern.

Die Diagnose von Tumorerkrankungen kann gemäß der Erfindung auch auf der Genebene erfolgen. Dazu werden mit ausgewählten Primern und cDNA-Sonden, die aus der Gensequenz des Conductins abgeleitet sind,

- das Gen, das für Conductin, seine Mutanten und Varianten oder Teile davon kodiert, bzw.
- mRNA-Sequenzen, die von diesen Genen abgelesen werden, nachgewiesen.

Das erfindungsgemäße Mittel zur Therapie von Tumorerkrankungen enthält Substanzen, die die Wirkung des Conductins im Körper aktivieren/reaktivieren. Das sind vor allem Mittel, die den Genpromoter des Conductins aktivieren bzw. Mittel, die die Stabilität der von den Conductin-Genen abgeleiteten m-RNA-Sequenzen erhöht. Das Hauptziel aller dieser Mittel besteht erfindungsgemäß darin, die Aktivität des Conductins in den Körperzellen zu erhöhen. Dazu kommen u. a. kleinmolekulare Substanzen in Betracht, die z. B. durch High-Througput-Number-Screening gefunden werden.

Die Erfindung umfaßt auch gentherapeutische Mittel, enthaltend Gene, die für Conductin, seine Mutanten und Varianten oder Teile davon kodieren, bzw. mRNA-Sequenzen, die von diesen Genen abgelesen werden.

Unter Schutz gestellt wird ferner das neue Protein Conductin gemäß Abb. 1 - SEQ ID No. 1, seine Mutanten und Varianten sowie Teile davon. Besonders bevorzugte Teilsequenzen sind die Aminosäuren 78-200 (RGS) - SEQ ID No. 2, 343-396 (GSK 3 β -Bindungsdomäne) - SEQ ID. No. 3, 397-465 (β -Catenin-Bindungsdomäne) - SEQ ID No. 4 und 783-833 (Dishevelled Homologie-Region) - SEQ ID No. 5. Zum Schutzzumfang gehören auch Teilsequenzen des Adenomatosis Poliposis Coli (APC),

gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenzen 1464-1604, 1516-1595, 1690-1778 und 1995-2083 als RGS-Domänen-Interaktionsorte.

Gleichermaßen beansprucht werden die analogen cDNA-Sequenzen, insbesondere die volle cDNA-Sequenz des Conductins (Basenpaare 1-2825) gemäß Abb. 2 - SEQ ID No. 6 sowie die Teilsequenzen des Conductins der Nukleotidfolge 446-814 (RGS-Genabschnitt) - SEQ ID No. 7, der Nukleotidfolge 1241-1402 (Genabschnitt der GSK 3 β -Bindungsdomäne) - SEQ ID No. 8, 1403-1609 (Genabschnitt der β -Catenin-Bindungsdomäne) - SEQ ID No. 9 und der Nukleotidfolge 2561-2713 (Genabschnitt der Dishevelled Homologie-Region) - SEQ ID No. 10.

Die Erfindung wird durch die folgenden Ausführungsbeispiele näher erläutert.

Conductin wurde durch einen Hefe 2-Hybrid Screen als β -Catenin-Interaktionspartner identifiziert. Die vollständige cDNA-Sequenz wurde daraufhin isoliert und sequenziert. Die abgeleitete Aminosäuresequenz von Conductin ist in Abb. 1 gezeigt, die Nukleotidsequenz in Abb. 2 und die Gegenüberstellung von Aminosäure- und Nukleotidsequenz in Abb. 3. Conductin besteht aus 840 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von 92,8 kDa. Durch Sequenzvergleiche wurde im Conductin eine RGS-Domäne (Aminosäuren 78-200) und eine zu dem Protein Dishevelled verwandte Domäne (Aminosäuren 783-833, Dishevelled Homologie-Region) identifiziert (Abb. 1-3). Die GSK 3 β - und β -Catenin-Bindungsdomänen (Aminosäuren 343-396 bzw. 397-465) wurden durch Interaktionsstudien im 2-Hybrid-System entdeckt (Abb. 4). Es zeigte sich, daß diese Domänen ausreichend und notwendig für die Bindung an GSK 3 β bzw. β -Catenin sind (Abb. 4), wohingegen die RGS- und Dishevelled Homologie-Region nicht beteiligt sind. Die Wechselwirkung von Conductin mit GSK 3 β bzw. β -Catenin wurde auch in Co-Immunpräzipitationsexperimenten biochemisch bewiesen.

Die Wirkung von Conductin auf β -Catenin wurde in SW480 Zellen untersucht. In diesen Zellen ist das Tumor-Suppressor-Genprodukt

APC mutiert, wodurch es zu einem Anstieg des cytoplasmatischen und vor allem nukleären Gehalts von β -Catenin kommt. Die Einbringung von Conductin in diese Zellen führt zu einem drastischen Abbau von β -Catenin, wodurch die Zelle von cytoplasmatischem und im Zellkern befindlichen β -Catenin depletiert wird (Abb. 4). Diese Wirkung auf den Gehalt von β -Catenin ist gleich stark wie die von nichtmutiertem APC, woraus geschlossen werden kann, daß Conductin ebenfalls als Tumorsuppressor durch Regulation von β -Catenin wirkt. Es wurde außerdem gezeigt, daß Conductin den Wnt/Wingless-Signalweg auch in Xenopus-Embryonen durch seine Wirkung auf β -Catenin hemmt.

Es wurde außerdem festgestellt, daß Conductin mit APC direkt interagiert. APC-Fragmente von Aminosäure 1464-1604, 1516-1595, 1690-1778 und 1995-2083 wurden als Interaktionsstellen für Conductin identifiziert. In Conductin erfolgt die Bindung an APC über die RGS-Domäne; dieser Bereich ist ausreichend und notwendig für die Interaktion. Die anderen Domänen in Conductin sind nicht beteiligt (Abb. 4).

Legende zu den Abbildungen:**Abb. 1**Aminosäuresequenz von Conductin

Die Conductin cDNA kodiert ein Protein von 840 Aminosäuren mit einem berechneten Molekulargewicht von 92,8 kDa. Die RGS-Domäne (doppelt unterstrichen), die β -Catenin-Bindungsdomäne (einfach unterstrichen) und die Dishevelled Homologie-Region sind durch Fettdruck hervorgehoben.

Abb. 2Nukleotidsequenz von Conductin von Position 1-2825

Die Sequenzbereiche sind analog zu Abb.1 markiert.

Abb. 3Gegenüberstellung von Aminosäure- und Nukleotidsequenz von Conductin**Abb. 4**Analyse der Interaktion von Conductin und seinen Teilen mit β -Catenin, APC und GSK 3 β

Das Conductin Protein und abgeleitete Teilstücke sind schematisch dargestellt. Hervorgehoben sind die RGS-Domäne (RGS), die GSK 3 β -Bindungsdomäne (GSK BD) und die β -Catenin-Bindungsstelle (β -BD). Die Interaktion mit β -Catenin mit den APC Fragmenten von Aminosäure 1464-1604 (APCfr.1) und 1516-1595 (APCfr. 2) und GSK 3 β wurde im Hefe 2-Hybrid Assay untersucht und als β -Galaktosidase Einheiten quantifiziert. Man erkennt, daß die Bindung an β -Catenin auf die β -Catenin-Bindungsstelle beschränkt ist, die anderen Teile des Proteins tragen dazu nicht bei. Die Analyse zeigt außerdem die ausschließliche Interaktion von APC mit der RGS-Domäne von Conductin. Vergleichbare Ergebnisse für die Bindung an die RGS-Domäne wurden mit APC Fragmenten von Aminosäure 1690-1778 und 1995-2083 erhalten. Der

Abbau von β -Catenin in SW480 Zellen durch Conductin wurde nach transienter Expression der angegebenen Proteine und Immunfluoreszenz-Färbung von β -Catenin analysiert. Nur Teilstücke von Conductin, die an β -Catenin binden, führen zu dessen Abbau. Die Analyse zeigt schließlich die Bindung von GSK 3 β an die GSK 3 β -Bindungsdomäne von Conductin.

Patentansprüche

1. Mittel zur Diagnose von Tumoren, enthaltend eine Substanz, mit der
 - Conductin, seine Mutanten und Varianten oder Teile davon bzw.
 - Gene, die für Conductin, seine Mutanten und Varianten oder Teile davon kodieren, bzw.
 - m-RNA-Sequenzen, die von diesen Genen abgelesen werden, nachgewiesen werden.
2. Mittel zur Diagnose von Tumoren nach Anspruch 1, enthaltend spezifische Antikörper gegen Conductin, seine Varianten oder Mutanten oder Teile davon.
3. Mittel zur Diagnose von Tumoren nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß die spezifischen Antikörper monoklonale Antikörper sind.
4. Mittel zur Diagnose von Tumoren nach Anspruch 1, enthaltend korrespondierende Oligonukleotid-Primer bzw. DNA-Sonden zum Nachweis der Gene und deren Mutationen.
5. Mittel zur Diagnose von Tumoren nach Anspruch 1, enthaltend korrespondierende Oligonukleotid-Primer bzw. DNA-Sonden zum Nachweis der RNA-Sequenzen.
6. Mittel zur Therapie von Tumoren, enthaltend eine Substanz, die die Wirkung des Conductins im Körper aktiviert/reaktiviert.
7. Mittel nach Anspruch 6, enthaltend eine Substanz, die den Genpromoter des Conductins aktiviert.
8. Mittel nach Anspruch 6, enthaltend eine Substanz, die die Stabilität der mRNA-Sequenzen erhöht.
9. Mittel nach Anspruch 6, enthaltend eine Substanz, die die Aktivität des Conductins erhöht.

10. Conductin, seine Varianten und Mutanten sowie Teile davon.
11. Conductin nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 1-840 gemäß Abb. 1 (SEQ ID No. 1), wobei Abb. 1 Bestandteil dieses Anspruchs ist.
12. Teilsequenz des Conductins nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 78-200 (RGS-Domäne) der Abb. 1 (SEQ ID No. 2).
13. Teilsequenz des Conductins nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 343-396 (GSK 3 β) der Abb. 1 (SEQ ID No. 3).
14. Teilsequenz des Conductins nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 397-465 (β -Catenin-Bindungsdomäne) der Abb. 1 (SEQ ID No. 4).
15. Teilsequenz des Conductins nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 783-833 (Dishevelled Homologie-Region) der Abb. 1 (SEQ ID No 5).
16. Teilsequenzen des Adenomatosis Poliposis Coli (APC), gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenzen 1464-1604, 1516-1595, 1690-1778 und 1995-2083 als RGS-Domänen-Interaktionsorte.
17. cDNA-Sequenz von Conductin, seiner Varianten oder Mutanten oder Teilen davon.
18. cDNA-Sequenz des Conductins der Nukleotidfolge 1-2825 der Abb. 2 (SEQ ID No. 6), wobei Abb. 2 Bestandteil dieses Anspruchs ist.
19. cDNA-Teilsequenz des Conductins der Nukleotidfolge 446-814 (RGS-Genabschnitt) der Abb. 2 (SEQ ID No. 7).

20. cDNA-Teilsequenz des Conductins der Nukleotidfolge 1241-1402 (Genabschnitt der GSK 3 β -Bindungsdomäne) der Abb. 2 (SEQ ID No. 8).

21. cDNA-Teilsequenz des Conductins der Nukleotidfolge 1403-1609 (Genabschnitt der β -Catenin-Bindungsdomäne) der Abb. 2 (SEQ ID No. 9).

22. cDNA-Teilsequenz des Conductins der Nukleotidfolge 2561-2713 (Genabschnitt der Dishevelled Homologie-Region) der Abb. 2 (SEQ ID No. 10).

23. Verwendung des Conductin-Gens für die Gentherapie von Tumorerkrankungen, dadurch gekennzeichnet, daß ein Vektor mit dem Conductin-Gen konstruiert wird, anschließend ein Gentransfer in den menschlichen Körper erfolgt und damit die Aktivität des Conductins in Körperzellen wiederhergestellt wird.

1/10

MSSAVLVTLTPDPSSSFREDAPRPPVPGEEGETPPCQPSVGKVQSTKMPVSSNARNED 60
GLGEPEGRASPDSPLTRWTKSLHSLLDGDQDGAYLERTFLEREKCVDTLDFWFACNGFROM 120
NLKDTKTLRVAKAIYKRYIENNSVSVSKQLKPATKTYIRDGIKKQOIGSVMFDQAQTEIQA 180
VMEENAYQVFLTSDIYLEYVRSGGENTAYMSNGGLGSLKVLGGLPTLNEEEEWTCADLK 240
CKLSPTVVGLSSKTLRATASVRSTETAENGFRSFKRSDPVNPNYHVGSGYVFAPATSANDS 300
ELSSDALTDSDMSMTDSSVDGVPYRMSGSKQLQREMHRSVKANGQVSLPHFPRTHERLPK 360
EMTPVEPAFAAELISRLKLELESRHSLEERLQQIREDEEKEGSEQALSSRDGAPVQ 420
HPLALLFSGSYEEDPQTILDDHLSRVLKTGCGQSPGVGRYSPRSRSPDHFHQHHHQQCH 480
TLLSTGGKLPPVAACPLLGGKSFLTQTTKHVHHYIHHHAVPKTKEEIEAEATQVRVCL 540
CPGGTDYYCYCKSHPKAPEPLPGEQFCGSRGGTLPKRNAKGTEPGLALSARDGGMSSA 600
AGGPQLPGEEDRSQDVWQWMLERQSKSKPHSAQSIRKSYPLESARAAPGERVSRHHL 660
LGASGHSRSVARAHPFTQDPAMPPLTPPNTLAQLEEACRRLAEVSKPQKQRCCVASQORD 720
PNHSAAGQAGASPFANPSLAPEDHKEPKKLASVHALQASELVVTYFFCGEEIPYRMLKA 780
QSLTLGHFKEQLSKKGNRYRYFFKASDEFACGAVFEEIWDDETVLPMYEGRILCKVERID 840

Abb. 1

CAGCCGTTTCGCGATGGATTTCGGGGCCACCCGGAGGCCGAGGCGTCCGGCTCCCCAAAGG 60
 AGAGCTTTGTGTGTAAGAGAGAGGAGGCTCACATGAGCCCCCTGCTGACTTAAGAGAGACCA 120
 AGCCGATTGCTGAGAGGAACTGGAAGAAGAAAAAGGAGGAGGAGGAAAAAAGCAAAAC 180
 AAAATCCAAACTCAGTGAGACGCTCTCCCTCACCATGAGTAGCGCGTGTIAGTACTCT 240
 CCTTCCAGATCCCAGCAGCAGCTTCCGCGAGGATGCTCCGCGCCCCCGGTTCCGGGAGA 300
 AGAAGGGGAGACCCACCGTGTACGCTAGTGTGGCAAGGTCCAGTCCACCAAACCTAT 360
 GCCCCGTTTCTCTAATGCTAGGCGGAATGAAGATGGACTGGGGGAGCCCGAGGGCGGGC 420
 CTCCCCGATTCCCCCTTGACCAGGTGGACCAAGTCTTTACACTCCTTGTGGGTGACCA 480
GGATGGTGCATACCTCTTCCGGACTTTCCTGGAGAGGGAGAAATGTGTGGATACGCTGGA 540
CTTCTGGTTTGCTTGTAAATGGGTTTCAGGCAGATGAACCTGAAGGATACCAAACTTTGCG 600
AGTGGCCAAAGCAATCTATAAGAGGTACATTGAGAACAACAGCGTTGTCTCCAAGCAGCT 660
GAAGCCCCCACCAGACCTACATACGAGATGGCATCAAGAAGCAACAGATCGGCTCGGT 720
CATGTTTGACCAGGCACAGACCGAGATCCAGGCAGTGATGGAGGAAAAATGCCTACCAGT 780
GTTCTTGACTTCTGCATTTTACCTGGAATATGTGAGGAGTGGGGGGAAAAACAGCTTA 840
 CATGAGTAACGGGGGACTGGGGAGCCTAAAGGTCTTATGTGGCTACCTCCCCACCTTGAA 900
 TGAAGAAGAGGAGTGGACGTGTGCCGACCTCAAGTGCAAACTCTCACCACCGTGGTTGG 960
 CTTGTCCAGCAAACTCTTCCGGCCACCGCGAGTGTGAGATCCACGGAACAGCTGAAAA 1020
 CGGATTCAGTCTTCAAGAGAAGCGACCCAGTCAATCCTTATCAGTAGGTTCCGGCTA 1080
 TGTCTTTGCACCCAGCCACCGCCAACGACAGCGAGTTATCCAGCGACGCACTGACCGA 1140
 CGATTCCATGTCCATGACGGACAGTAGCGTAGATGGAGTCCCTCCTTACCGCATGGGGAG 1200
 TAAGAAACAGCTCCAGAGAGAGATGCATCGCAGTGTGAAGGCCAATGGCCAAGTGTCTCT 1260
ACCTCATTTTCCGAGAACCCACCGCCTGCCCAAGGAGATGACGCTGTGGAACCTGCTGC 1320
CTTCGCGCGCGAGCTCATCTCCAGGCTGGAGAACTGAAACTGGAGCTGGAAAGCCGCCA 1380
TAGTCTGGAGGAGCGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAAAGGAGGGTCTGAGCA 1440
GGCCCTGAGCTCACGGGATGGAGCACCGGTCCAGCACCCCTGGCCCTCCTACCCTCCGG 1500
CAGCTATGAAGAGGACCCACAACCATTGAGACGACCCTTCCAGGGTCTCAAGAC 1560
CCCCGGCTGTCAATCCCTGGTGTGGGTGCTACAGCCACGGTCCCGCTCCCCGACCA 1620
 CCACCACCAGCACCACCACCATCAGCAGTGTATACCTTCTTTCGACTGGGGCAAGCT 1680
 GCCCCCGTGGTGTCTTGGCCCCCTCTTGGAGGCAAGAGCTTCTGACCAAACAGACGAC 1740
 GAAGCAGTTTACCACCACTACATCCACCACCACCGCTCCCCAAGACCAAGGAGGAGAT 1800
 CGAGGCAGAAGCCACACAGAGAGTCCGCTGCTCTGTCTGGGGGAACAGATTATTATG 1860
 CTACTCCAAATGCAAAAGCCACCCGAAGGCTCCAGAGCCCTGCTGGGGAGCAGTTTGT 1920
 TGGCAGCAGAGGTGGTACCTTGCCAAAACGGAATGCAAAGGGCACCGAACCGGTCTTGC 1980
 ACTGTCCGCCAGGGATGGAGGGATGTCCAGTGCAGCGGGGGCCCCAGCTTCTGGGGA 2040
 AGAAGGAGACCGGTACAGGATGTCTGGCAGTGGATGTTGGAGAGTGAGCGGCAGAGCAA 2100
 GTCCAAGCCCCATAGTCCCAAAGCATAAGAAAGAGCTACCCATTGGAGTCTGCCGTGC 2160
 GGCCCCAGGAGAACGAGTCAGCCGGCACCATCTGTTGGGGGCCAGCGGACACTCCCGCTC 2220
 AGTGGCCCCGGGCTCACCCATTACCCAGGACCCCTGCAATGCCTCCCTTACCCACCCAA 2280
 CACTTTGGCAGCTAGAGGAAGCCTGCCGAGGCTGGCAGAGGTGTGGAAGCCCCAGAA 2340
 GCAGCGGTGCTGCGTGGCCAGTCAGCAGAGGGACAGGAACCACTCGGCTGCTGGTCAGGC 2400
 AGGAGCCTCACCTTCCCAACCCAGCCTGGCTCCAGAAGATCAAAAGAGCCAAAGAA 2460
 ACTGGCAAGTGTCCACGCGCTCCAGGCCAGTGAGCTGGTGTGTACCTACTTTTTCTGTGG 2520
 AGAAGAAATTCCATACAGGAGGATGCTGAAGGCTCAAAGCTTGACCCCTGGGCCACTTCAA 2580
 GGAGCAGCTCAGCAAAAAGGGAAATTACAGGTATTATTTCAAGAAGGCGAGTGACGAATT 2640
 TGCTGCGGAGCAGTTTTTGGAGAGATCTGGGACGACGAGACAGTGCTCCCCATGTACGA 2700
 AGGCAGGATCTTGGGCAAGTGGAGAGGATCGACTGAGCCTTGGCTCTCTGGCGTGCAG 2760
 CCTGGGCAAGCACCTCGGCGTGCACCATGGAGCCGAAGCCAGAGACCTGTCTCAGGCC 2820
 TACGC 2825

Abb. 2

3/10

215	ATG	AGT	AGC	GCC	GTG	TTA	GTG	ACT
1	M	S	S	A	V	L	V	T
CTC	CTT	CCA	GAT	CCC	AGC	AGC	AGC	TTC
L	L	P	D	P	S	S	S	F
CGC	GAG	GAT	GCT	CCG	CGG	CCC	CCG	GTT
R	E	D	A	P	R	P	P	V
CCG	GGA	GAA	GAA	GGG	GAG	ACC	CCA	CCG
P	G	E	E	G	E	T	P	P
TGT	CAG	CCT	AGT	GTG	GGC	AAG	GTC	CAG
C	Q	P	S	V	G	K	V	Q
TCC	ACC	AAA	CCT	ATG	CCC	GTT	TCC	TCT
S	T	K	P	M	P	V	S	S
AAT	GCT	AGG	CGG	AAT	GAA	GAT	GGA	CTG
N	A	R	R	N	E	D	G	L
GGG	GAG	CCC	GAG	GGG	CGG	GCC	TCC	CCC
G	E	P	E	G	R	A	S	P
GAT	TCC	CCT	TTG	ACC	AGG	TGG	ACC	AAG
D	S	P	L	T	R	<u>W</u>	<u>T</u>	<u>K</u>
TCT	TTA	CAC	TCC	TTG	TTG	GGT	GAC	CAG
<u>S</u>	<u>L</u>	<u>H</u>	<u>S</u>	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>G</u>	<u>D</u>	<u>Q</u>
GAT	GGT	GCA	TAC	CTC	TTC	CGG	ACT	TTC
<u>D</u>	<u>G</u>	<u>A</u>	<u>Y</u>	<u>L</u>	<u>F</u>	<u>R</u>	<u>T</u>	<u>F</u>
CTG	GAG	AGG	GAG	AAA	TGT	GTG	GAT	ACG
<u>L</u>	<u>E</u>	<u>R</u>	<u>E</u>	<u>K</u>	<u>C</u>	<u>V</u>	<u>D</u>	<u>T</u>
CTG	GAC	TTC	TGG	TTT	GCT	TGT	AAT	GGG
<u>L</u>	<u>D</u>	<u>F</u>	<u>W</u>	<u>F</u>	<u>A</u>	<u>C</u>	<u>N</u>	<u>G</u>

Abb. 3

4/10

TTC	AGG	CAG	ATG	AAC	CTG	AAG	GAT	ACC
F	R	O	M	N	L	K	D	T
AAA	ACT	TTG	CGA	GTG	GCC	AAA	GCA	ATC
K	T	L	R	V	A	K	A	I
TAT	AAG	AGG	TAC	ATT	GAG	AAC	AAC	AGC
Y	K	R	Y	I	E	N	N	S
GTT	GTC	TCC	AAG	CAG	CTG	AAG	CCC	GCC
V	V	S	K	O	L	K	P	A
ACC	AAG	ACC	TAC	ATA	CGA	GAT	GGC	ATC
T	K	T	Y	I	R	D	G	I
AAG	AAG	CAA	CAG	ATC	GGC	TCG	GTC	ATG
K	K	O	O	I	G	S	V	M
TTT	GAC	CAG	GCA	CAG	ACC	GAG	ATC	CAG
F	D	O	A	O	T	E	I	Q
GCA	GTG	ATG	GAG	GAA	AAT	GCC	TAC	CAG
A	V	M	E	E	N	A	Y	Q
GTG	TTC	TTG	ACT	TCT	GAC	ATT	TAC	CTG
V	F	L	T	S	D	I	Y	L
GAA	TAT	GTG	AGG	AGT	GGG	GGG	GAA	AAC
E	Y	V	R	S	G	G	E	N
ACA	GCT	TAC	ATG	AGT	AAC	GGG	GGA	CTG
T	A	Y	M	S	N	G	G	L
GGG	AGC	CTA	AAG	GTC	TTA	TGT	GGC	TAC
G	S	L	K	V	L	C	G	Y
CTC	CCC	ACC	TTG	AAT	GAA	GAA	GAG	GAG
L	P	T	L	N	E	E	E	E

Abb. 3

5/10

TGG	ACG	TGT	GCC	GAC	CTC	AAG	TGC	AAA
W	T	C	A	D	L	K	C	K
CTC	TCA	CCC	ACC	GTG	GTT	GGC	TTG	TCC
L	S	P	T	V	V	G	L	S
AGC	AAA	ACT	CTT	CGG	GCC	ACC	GCG	AGT
S	K	T	L	R	A	T	A	S
GTG	AGA	TCC	ACG	GAA	ACA	GCT	GAA	AAC
V	R	S	T	E	T	A	E	N
GGA	TTC	AGG	TCC	TTC	AAG	AGA	AGC	GAC
G	F	R	S	F	K	R	S	D
CCA	GTC	AAT	CCT	TAT	CAC	GTA	GGT	TCC
P	V	N	P	Y	H	V	G	S
GGC	TAT	GTC	TTT	GCA	CCA	GCC	ACC	AGC
G	Y	V	F	A	P	A	T	S
GCC	AAC	GAC	AGC	GAG	TTA	TCC	AGC	GAC
A	N	D	S	E	L	S	S	D
GCA	CTG	ACC	GAC	GAT	TCC	ATG	TCC	ATG
A	L	T	D	D	S	M	S	M
ACG	GAC	AGT	AGC	GTA	GAT	GGA	GTC	CCT
T	D	S	S	V	D	G	V	P
CCT	TAC	CGC	ATG	GGG	AGT	AAG	AAA	CAG
P	Y	R	M	G	S	K	K	Q
CTC	CAG	AGA	GAG	ATG	CAT	CGC	AGT	GTG
L	Q	R	E	M	H	R	S	V
AAG	GCC	AAT	GGC	CAA	GTG	TCT	CTA	CCT
K	A	N	G	Q	V	S	L	P
CAT	TTT	CCG	AGA	ACC	CAC	CGC	CTG	CCC
H	F	P	R	T	H	R	L	P

Abb. 3

ERSATZBLATT (REGEL 26)

AAG GAG ATG ACG CCT GTG GAA CCT GCT
 K E M T P V E P A

GCC TTC GCC GCC GAG CTC ATC TCC AGG
 A F A A E L I S R

CTG GAG AAA CTG AAA CTG GAG CTG GAA
 L E K L K L E L E

AGC CGC CAT AGT CTG GAG GAG CGG CTG
 S R H S L E E R L

CAG CAG ATC CGG GAG GAT GAA GAA AAG
 Q O I R E D E E K

GAG GGG TCT GAG CAG GCC CTG AGC TCA
 E G S E O A L S S

CGG GAT GGA GCA CCG GTC CAG CAC CCC
 R D G A P V O H P

CTG GCC CTC CTA CCC TCC GGC AGC TAT
 L A L L P S G S Y

GAA GAG GAC CCA CAA ACC ATT TTG GAC
 E E D P O T I L D

GAC CAC CTC TCC AGG GTC CTC AAG ACC
 D H L S R V L K T

CCC GGC TGT CAA TCC CCT GGT GTG GGT
 P G C O S P G V G

CGC TAC AGC CCA CGG TCC CGC TCC CCC
 R Y S P R S R S P

GAC CAC CAC CAC CAG CAC CAC CAC CAT
 D H H H Q H H H H

7/10

CAG	CAG	TGT	CAT	ACC	CTT	CTT	TCG	ACT
Q	Q	C	H	T	L	L	S	T
GGG	GGC	AAG	CTG	CCC	CCC	GTG	GCT	GCT
G	G	K	L	P	P	V	A	A
TGC	CCC	CTC	CTT	GGA	GGC	AAG	AGC	TTC
C	P	L	L	G	G	K	S	F
CTG	ACC	AAA	CAG	ACG	ACG	AAG	CAC	GTT
L	T	K	Q	T	T	K	H	V
CAC	CAC	CAC	TAC	ATC	CAC	CAC	CAC	GCC
H	H	H	Y	I	H	H	H	A
GTC	CCC	AAG	ACC	AAG	GAG	GAG	ATC	GAG
V	P	K	T	K	E	E	I	E
GCA	GAA	GCC	ACA	CAG	AGA	GTC	CGC	TGC
A	E	A	T	Q	R	V	R	C
CTC	TGT	CCT	GGG	GGA	ACA	GAT	TAT	TAT
L	C	P	G	G	T	D	Y	Y
TGC	TAC	TCC	AAA	TGC	AAA	AGC	CAC	CCG
C	Y	S	K	C	K	S	H	P
AAG	GCT	CCA	GAG	CCC	CTG	CCT	GGG	GAG
K	A	P	E	P	L	P	G	E
CAG	TTT	TGT	GGC	AGC	AGA	GGT	GGT	ACC
Q	F	C	G	S	R	G	G	T
TTG	CCA	AAA	CGG	AAT	GCA	AAG	GGC	ACC
L	P	K	R	N	A	K	G	T
GAA	CCG	GGT	CTT	GCA	CTG	TCG	GCC	AGG
E	P	G	L	A	L	S	A	R
GAT	GGA	GGG	ATG	TCC	AGT	GCA	GCG	GGG
D	G	G	M	S	S	A	A	G

8/10

GGC	CCC	CAG	CTT	CCT	GGG	GAA	GAA	GGA
G	P	Q	L	P	G	E	E	G
GAC	CGG	TCA	CAG	GAT	GTC	TGG	CAG	TGG
D	R	S	Q	D	V	W	Q	W
ATG	TTG	GAG	AGT	GAG	CGG	CAG	AGC	AAG
M	L	E	S	E	R	Q	S	K
TCC	AAG	CCC	CAT	AGT	GCC	CAA	AGC	ATA
S	K	P	H	S	A	Q	S	I
AGA	AAG	AGC	TAC	CCA	TTG	GAG	TCT	GCC
R	K	S	Y	P	L	E	S	A
CGT	GCG	GCC	CCA	GGA	GAA	CGA	GTC	AGC
R	A	A	P	G	E	R	V	S
CGG	CAC	CAT	CTG	TTG	GGG	GCC	AGC	GGA
R	H	H	L	L	G	A	S	G
CAC	TCC	CGC	TCA	GTG	GCC	CGG	GCT	CAC
H	S	R	S	V	A	R	A	H
CCA	TTT	ACC	CAG	GAC	CCT	GCA	ATG	CCT
P	F	T	Q	D	P	A	M	P
CCC	CTT	ACC	CCA	CCC	AAC	ACT	TTG	GCA
P	L	T	P	P	N	T	L	A
CAG	CTA	GAG	GAA	GCC	TGC	CGC	AGG	CTG
Q	L	E	E	A	C	R	R	L
GCA	GAG	GTG	TCG	AAG	CCC	CAG	AAG	CAG
A	E	V	S	K	P	Q	K	Q
CGG	TGC	TGC	GTG	GCC	AGT	CAG	CAG	AGG
R	C	C	V	A	S	Q	Q	R

Abb. 3

9/10

GAC	AGG	AAC	CAC	TCG	GCT	GCT	GGT	CAG
D	R	N	H	S	A	A	G	Q
GCA	GGA	GCC	TCA	CCC	TTC	GCC	AAC	CCA
A	G	A	S	P	F	A	N	P
AGC	CTG	GCT	CCA	GAA	GAT	CAC	AAA	GAG
S	L	A	P	E	D	H	K	E
CCA	AAG	AAA	CTG	GCA	AGT	GTC	CAC	GCG
P	K	K	L	A	S	V	H	A
CTC	CAG	GCC	AGT	GAG	CTG	GTT	GTC	ACC
L	Q	A	S	E	L	V	V	T
TAC	TTT	TTC	TGT	GGA	GAA	GAA	ATT	CCA
Y	F	F	C	G	E	E	I	P
TAC	AGG	AGG	ATG	CTG	AAG	GCT	CAA	AGC
Y	R	R	M	L	K	A	Q	S
TTG	ACC	CTG	GGC	CAC	TTC	AAG	GAG	CAG
L	T	L	G	H	F	K	E	Q
CTC	AGC	AAA	AAG	GGA	AAT	TAC	AGG	TAT
L	S	K	K	G	N	Y	R	Y
TAT	TTC	AAG	AAG	GCG	AGT	GAC	GAA	TTT
Y	F	K	K	A	S	D	E	F
GCC	TGC	GGA	GCA	GTT	TTT	GAG	GAG	ATC
A	C	G	A	V	F	E	E	I
TGG	GAC	GAC	GAG	ACA	GTG	CTC	CCC	ATG
W	D	D	E	T	V	L	P	M
TAC	GAA	GGC	AGG	ATC	CTG	GGC	AAA	GTG
Y	E	G	R	I	L	G	K	V
GAG	AGG	ATC	GAC	TGA	2737			
E	R	I	D	Stop				

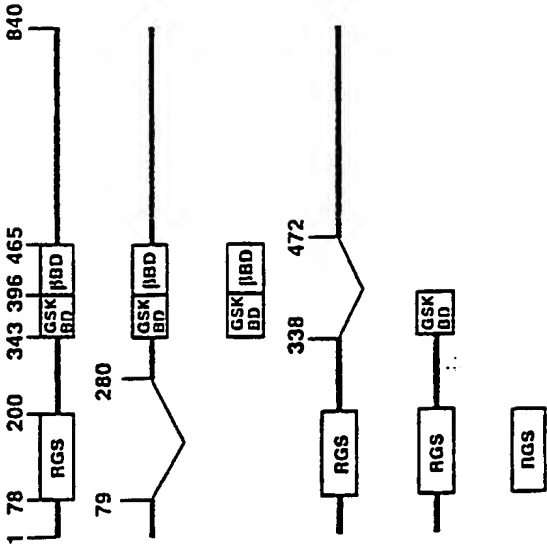
Abb. 3

10/10

Abbau von β -Catenin
in SW480 Zellen

Interaktion mit
 β -Catenin APC #1 APC #2 GSK3 β

Conductin
Konstrukte



220	6	9	18	ja
490	0	0	n.d.	ja
1060	0	0	670	nein
0	190	260	0	nein
0	110	250	84	nein
0	390	390	0	nein

Abb. 4